

用显微镜确定骨龄的初步研究

朱 芳 武¹⁾

(广西中医学院)

关键词 骨龄的确定；显微结构；股骨

内 容 提 要

作者对在广西地区收集的年龄从5岁至86岁的35副完整骨骼的右股骨中点横断磨片的骨单位数、骨间板数、非哈弗氏管数及外环骨板平均相对厚度进行了观测和计算。这些指标与年龄之间均存在非常显著的相关，并建立了相应的回归方程。这些回归方程的估计年龄与实际年龄的误差在±5岁以内的，达80%左右；在±10岁以内的，达90%左右。与用Kerley法所作的对比检验表明，本文方法较适用于国人材料。

骨骼年龄的确定是人类学、法医学及考古学的一项重要内容。确定骨骼年龄的传统方法是依据骨骼随年龄而变化的外部特征作出年龄估计的。这种方法在实际使用中存在一定的局限性，当骨骼不完整，对确定骨龄最有用的标志不存在时，用这种方法所确定的年龄的准确程度便大为降低。年龄在50岁以上的骨骼，因为确定年龄所依据的标志变异性较大，所以骨龄的估计误差往往较大（陈世贤，1980；Kerley，1965）。而且，用这种传统方法确定骨龄的准确程度也与鉴定者的经验有关。为了克服鉴定骨龄的传统方法的这种局限性，有必要寻找新的确定骨龄的方法。为此，本文作者在前人研究的基础上，用国人材料进一步探索股骨骨密质的年龄变化规律，并以此为依据确立用显微镜估计骨骼年龄的方法。

早在1824年，Cooper在其著作中写道：“所谓老年是一个自然的有规律的衰退过程，其并发的变化容易从尸体上确认。这些变化中的一个主要表现是在骨骼方面，即骨皮质变薄及骨质疏松”（Sharp, 1979）。Jowsey（1960）对人骨骨密质的显微结构观察表明，股骨中段骨密质随年龄增加而出现显微镜可见的改变。Currey（1964）对一组19例股骨中段编年标本所作的观察表明，随年龄增加，骨间板及骨单位的密度增加，而骨单位的平均直径变小；但哈弗氏管平均直径及股骨骨干骨密质厚度不发生明显的改变，并建立了相应的回归方程。针对Currey的结论，Jowsey（1966）较严格地选择了一组26例股骨标本；用显微放射照像法，重新对骨密质的年龄变化进行观察，得到一些不同的结果：即哈弗氏管的周长随年龄增加而明显增长，而骨单位的直径并未随年龄增加而缩小。Kerley（1965）对126副骸骨的股骨、胫骨及腓骨的骨密质的年龄变化作了系统的观察，发现骨单位数、骨间板数、非哈弗氏管数及外环骨板平均相对厚度均有年龄变化规律，并建立了可供实

1) 本文指导老师是方中祐和冯家骏。

用的多因素综合估计年龄的方法。Добряк (1967) 对不同年龄的人的四肢长骨骨密质的不同水平断面的组织结构及骨密质厚度作了系统观察，发现均有明显的年龄变化规律。Vincentelli (1978) 用扫描电镜对各型游离骨单位的胶原纤维的分布与排列方向进行观察，发现各型骨单位数量的变化与标本年龄均存在非常显著的线性相关。Tappen (1977) 用脱钙骨连续切片的方法对骨组织的改建过程进行了三维空间的研究，加深了对骨单位及其形成过程的认识。Begater (1977) 用X线光谱微量分析与显微放射照像相结合的方法，发现人的长骨及扁骨中的骨单位及骨间板的钙、镁、磷的含量及分布随年龄而变化。

在成书于公元前4世纪的我国古典医籍《黄帝内经素问》中就明确记述了有关骨骼生长、盛衰的年龄变化规律以及男女两性骨骼发育在大体形态方面的差异。现代，我国学者陈康颐等(1964)系统地介绍了以长骨哈弗氏管管径估测年龄的方法。近年来，陈世贤(1980)系统介绍了从骨骼的形态结构估测年龄的各种方法，其中包括利用多因素综合估计年龄的方法。但尚未见到有以国人骨密质组织结构进行年龄特征研究的报告。为此，本文作者以国人材料进行骨密质多项结构的年龄特征研究(仿Kerley法)，为建立国人以骨密质结构推算年龄的方法作初步探讨，为研究国人骨密质年龄变化规律积累资料。

一、材料及方法

35例标本均取自整副的广西籍人骸骨，有死亡时的年龄记录。年龄从5岁至86岁，女性6例，男性29例。17例死于急性创伤，其余18例为解剖室内的尸体，其死因不详。尸体经10%的福尔马林固定或土埋1至2年。所选用的尸体为营养发育良好、无恶病质、四肢正常、未见局部畸形及伤痕，且无自发性骨折。从每例尸体的右侧股骨中点锯取横断骨片，断面与股骨长轴垂直。骨片经圆盘式磨片机粗磨后，再经手工细磨至通过骨片能透视新闻报纸5号字迹；流水洗净，经95%酒精脱水5分钟后，用二甲苯透明5分钟，以中性树脂封固。骨片制完成后，用肉眼及显微镜检查，只选用肉眼观及显微镜观均属正常的骨片。

在股骨磨片上，通过互相垂直的前后径和横径确定股骨磨片外侧缘的前后、内外4个极点。用普通光学显微镜在100倍(10×10)视野(宽度为1.5mm)下进行观察。视野的外缘应恰与前后、内外极点相切(见图1)。这样得出的在特定部位、特定大小的视野，在本文中称为“标准视野”。用国产显微镜目镜测微计测量，在100倍时，该测微计的最小刻度1格相当于14.4微米。

在每张骨片内通过计数或测量，得出下列4项观察指标：骨单位数、骨间板数、外环骨板平均相对厚度及非哈弗氏管数。

骨单位又称为哈弗氏系统。围绕整个骨单位的外围有一条倒转线或粘合线。将每张骨片4个标准视野内的骨单位的个数累计，即得该骨片的骨单位数。对于那些老的骨单位只要其哈弗氏管周围可见数层结构完整、分层清楚的同心性骨板，粘合线或多或少地存在，同样列入骨单位数的统计。

骨间板为衰老的骨单位的残余碎片。因此，那些残余的同心性骨板仍有同心性排列特征，为不带哈弗氏管的弓形或新月形结构，填充在骨单位之间。将每张骨片的4个标准

视野内的骨间板个数累计，即得该骨片的骨间板数。在视野周边部的骨板，因不能区分是属于骨单位的骨板或是骨间板，故不列入统计。

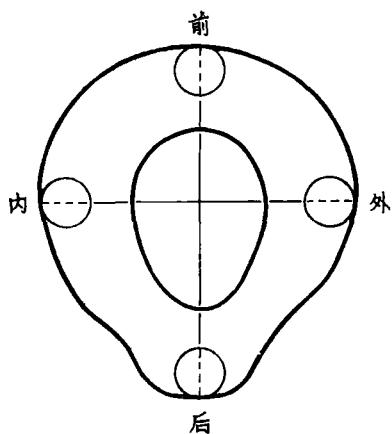


图 1 四个标准视野在股骨磨片中的位置

The location of four selected visual fields in cross section of the femur

外环骨板是由间隔相等的骨板组成，这些骨板互相平行地环绕于骨皮质的周边部。在每张骨片的 4 个标准视野内，用目镜测微计分别测量外环骨板在互相垂直的横径和前后径上的厚度，然后将 4 个标准视野内测得的外环骨板的厚度累加，再除以 4，即得每张骨片的外环骨板的平均厚度。外环骨板平均厚度与标准视野的宽度 (1500μ) 之比值即为外环骨板平均相对厚度。

非哈弗氏管是原成骨单位或非哈弗氏系统中容纳血管的管腔，为血管通过骨皮质时形成的。原成骨单位没有倒转线或粘合线环绕其外界，仅有少数环形骨板呈带状环绕在非哈弗氏管的外周。本文仅计数外环骨板内的非哈弗氏管。每张骨片的 4 个标准视野内的非哈弗氏管的累计数即为该骨片的非哈弗氏管数。

二、结 果

1. 骨单位数和年龄的关系

35 张骨片的骨单位数列如表 1。

从表 1 可见，骨单位数随年龄增加而增加，为正相关（见图 2）。经统计学处理，相关

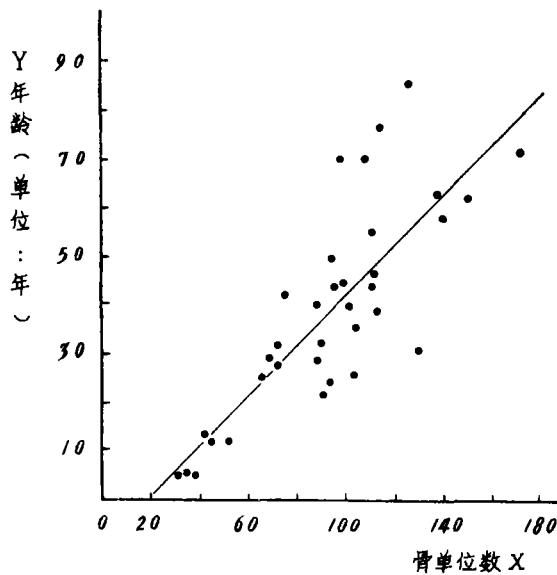


图 2 骨单位数与年龄的关系

The relation between the number of osteon and the age

表 1 4项观察指标计数测量结果

编 号	年 龄 (岁)	性 别	骨 单 位 数	骨 间 板 数	外环骨板		非哈弗 氏管数
					平均厚度 (μ)	平均相对厚度 (平均厚度/ 1500μ)	
1	5	男	40	6	799.2	0.5328	101
2	5	男	33	2	828.0	0.5520	62
3	5	男	36	5	691.2	0.4608	39
4	12	男	46	4	369.0	0.2460	19
5	12	男	53	11	403.0	0.2687	43
6	13	男	44	4	486.0	0.3240	37
7	22	男	92	6	198.0	0.1320	12
8	24	女	94	12	147.6	0.0984	7
9	25	男	67	5	129.6	0.1250	10
10	26	女	104	8	93.6	0.0864	5
11	28	男	73	2	126.0	0.1300	10
12	29	女	89	5	100.8	0.0624	6
13	29	男	70	6	90.0	0.0840	9
14	31	男	130	10	82.8	0.0447	3
15	32	男	90	5	111.6	0.0674	3
16	32	男	73	1	55.8	0.0916	2
17	36	男	105	7	85.4	0.0569	3
18	39	男	114	13	90.0	0.0600	4
19	40	男	103	13	82.8	0.0552	3
20	40	男	90	6	165.8	0.1110	6
21	42	男	76	4	111.6	0.0744	1
22	44	男	97	13	117.3	0.0782	5
23	44	男	112	15	55.8	0.0372	7
24	45	男	100	3	45.2	0.0301	1
25	47	男	112	13	85.4	0.0569	4
26	50	男	96	16	64.8	0.0432	2
27	55	男	111	15	75.6	0.0504	4
28	58	男	141	18	48.6	0.0324	2
29	62	女	145	21	28.8	0.0192	2
30	63	男	138	12	72.0	0.0486	1
31	70	男	98	19	43.2	0.0288	6
32	70	女	108	19	68.4	0.0456	2
33	72	男	171	16	60.3	0.0402	4
34	77	男	114	20	40.2	0.0268	2
35	86	女	126	32	25.2	0.0168	1

系数 $r = 0.81$, $p < 0.0005$, 相关属高度显著性。直线回归方程为:

$$\hat{Y} = 0.53x - 10.69 \quad (\text{I 式})$$

回归方程的标准估计误差 $S_y \cdot x = 12.84$ 。

式中 \hat{Y} 为以年为单位的估计年龄, x 为每张骨片的骨单位数, 回归系数 $b = 0.53$ $p < 0.0005$, 回归系数有非常显著的意义。

2. 骨间板数与年龄的关系

35 张骨片的骨间板数列如表 1。

从表 1 可见, 骨间板数随年龄增加而增加, 为正相关(见图 3)。这种关系经数理统计处理, 得如下结果:

相关系数 $r = 0.76$, $p < 0.0005$, 相关属高度显著性。回归方程为:

$$\hat{Y} = 2.11x + 16.25 \text{ (II 式)}$$

回归方程的标准估计误差 $Sy \cdot x = 13.80$ 。

式中 \hat{Y} 为以年为单位的估计年龄, x 为每张骨片的骨间板数。回归系数 $b = 2.11$, $p < 0.0005$, 回归系数有非常显著的意义。

3. 外环骨板平均相对厚度与年龄的关系

35 张骨片的外环骨板平均相对厚度列如表 1。

将表 1 中各骨片的外环骨板平均相对厚度与年龄经双对数转换, 并绘成散点图(见图 4)。从图 4 可见, 外环骨板平均相对厚度随年龄增加而减少, 为负相关。经数理统计学处理得如下结果:

相关系数 $r = -0.79$, $p < 0.001$, 相关属高度显著性。

所配合的回归方程为:

$$\hat{Y} = 5.7359x^{-0.6654} \text{ (III 式)}$$

回归方程的标准估计误差

$$Sy \cdot x = 2.01$$

式中 \hat{Y} 为用年表示的估计年龄, x 为每张骨片的外环骨板平均相对厚度, 回归

系数 $b = -0.6654$, $p < 0.001$, 回归系数具有高度显著性。

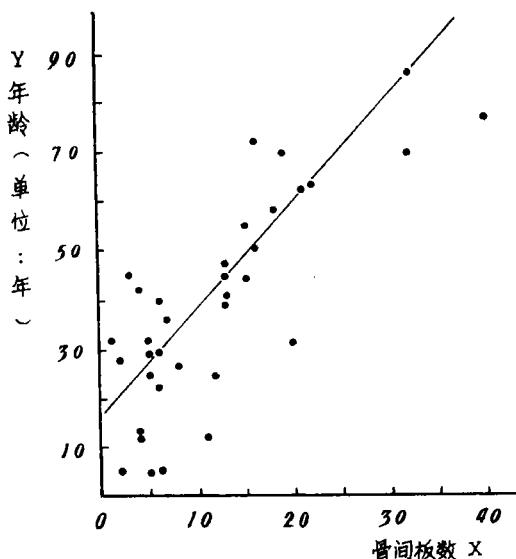


图 3 骨间板数与年龄的关系

The relation between the number of the osteon fragment and the age

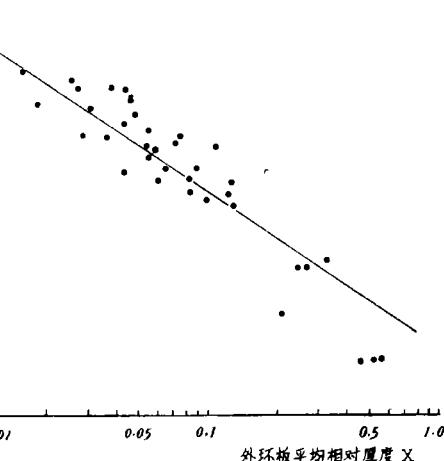


图 4 外环骨板平均相对厚度与年龄的关系

The relation between the average relative thickness of the outer circumferential lamellae and the age

4. 非哈弗氏管数与年龄的关系

35张骨片的非哈弗氏管数列如表1。

将表1中各骨片的非哈弗氏管数与年龄作双对数转换，并绘成散点图（见图5）。从图5可见，非哈弗氏管数随年龄增加而减少，为负相关。经数理统计学处理，得如下结果：

相关系数 $r = -0.85$, $p < 0.001$, 相关属高度显著性。

所配合的回归方程是：

$$\hat{Y} = 77.6426x^{-0.5345} \text{ (IV式)}$$

回归方程的标准估计误差 $Sy \cdot x = 1.51$ 。

上式中 \hat{Y} 为以年为单位的估计年龄。 x 为每张骨片的非哈弗氏管数。回归系数 $b = -0.5354$, $p < 0.001$, 回归系数具有非常显著的意义。

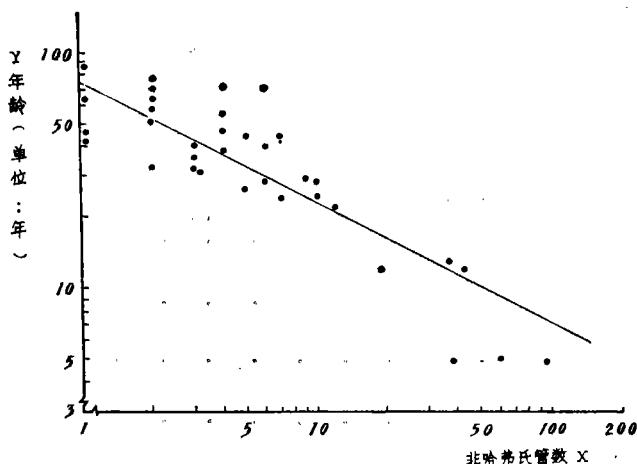


图5 非哈弗氏管数与年龄的关系

The relation between the number of the non-Haversian canal and the age

为了检验已建立的4个回归方程估计年龄的准确性，用回归方程I、II、III、IV式及其联用，以及III、IV式联用，对24例已知年龄的国人股骨标本进行验证，估计年龄与实际年龄的误差见表2。

表2 用不同方法对24例国人股骨标本验证结果

估计年龄 的方法	估计年龄与实际年龄的误差					
	±5岁以内		±5—±10岁		±10岁以上	
	例数	%	例数	%	例数	%
四式联用	20	83.3	1	4.2	3	12.5
III、IV式联用	19	79.2	3	12.5	2	8.3
III式	17	70.8	4	16.7	3	12.5
IV式	15	62.5	3	12.5	6	25.0
I式	9	37.5	7	29.2	8	33.3
II式	10	41.7	4	16.6	10	41.7

回归方程 I 式及 II 式单独用于估计年龄的准确性远不如同时应用 I、II、III、IV 式的 4 式联用 ($p < 0.01$)。这两个方程的标准估计误差较大,估计年龄的准确性较低。

回归方程 III 式及 IV 式的标准估计误差较小,估计年龄与实际年龄相差在 ± 5 岁以内达 70% 左右,这两式单独用来估计年龄,准确性虽不为 III、IV 式联用或 4 式联用高,但这种差异经数理统计学处理表明是不显著的 ($p > 0.05$)。

回归方程 III、IV 式联用及 4 式联用,估计年龄的准确性较用单因素方法高;估计误差在 ± 5 岁内达 80% 左右。这两种多因素估计年龄的方法的估计结果虽有些差别,但这种差异在统计学上没有显著意义 ($p > 0.05$)。

回归方程 I、II、III、IV 式联用多因素综合估计年龄的方法,是通过标本的观察指标 (x) 分别用相应的回归方程求出估计年龄 \hat{x} 及其 95% 可信限,即估计年龄范围。然后将各估计年龄范围分别用相应的实线在轮廓图上标明。相应的数字列在图的右侧,这样图上所标的线段上下方就会出现重叠部位。在重叠部分处表示最小年龄端和最大年龄端各画一条垂直线,两垂线间的中线即为该标本的估计年龄。

回归方程 III、IV 式联用估计年龄的方法基本与回归方程 I、II、III、IV 式联用综合估计年龄的方法相同。

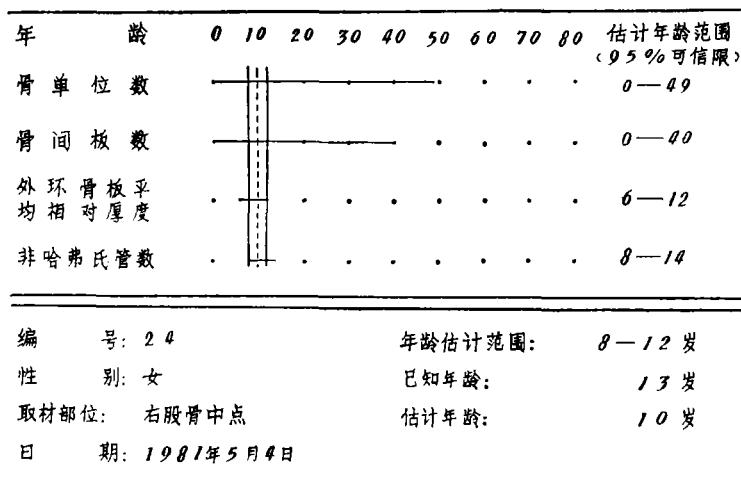


图 6 综合估计年龄示例
Example of the age estimated by a synthetic method

通过上述轮廓图利用多因素综合估计年龄的方法,使全部估计年龄的范围变窄;在不减少估计年龄的可靠性的同时,而将其准确性提高了。这是由于虽使年龄的估计范围变窄,但仍在 95% 的可信限内。

为了比较本文的估计年龄方法与 Kerley 法的实用价值,用 24 例已知死前年龄的国人股骨标本,分别对本文的 4 式联用的综合估计年龄的方法及 Kerley 法进行对比验证,结果列如表 3。从表 3 可见,用本文所提出的方法估计年龄与实际年龄的误差在 ± 5 岁以内者为 20 例 (83.3%), Kerley 法为 10 例 (41.7%)。两法结果差异具有非常显著的意义 ($p < 0.0025$)。而估计年龄与实际年龄的误差在 ± 5 岁以上者,两法结果差异无显著意义。

表 3 用 24 例国人股骨标本对本文方法及 Kerley 法的验证结果

估计误差	验 证 结 果				两法结果差异 显著性测验	
	本 文 方 法		Kerley's			
	例数	%	例数	%		
±5 岁以内	20	83.3	10	41.7	$p < 0.0025$	
±5—±10 岁	1	4.2	6	25.0	$p > 0.05$	
±10 岁以上	3	12.5	8	33.3	$p > 0.05$	
合 计	24	100.0	24	100.0		

($p > 0.05$)。

三、讨 论

1. 人股骨中段骨密质存在较明显的年龄变化。骨单位数，骨间板数随年龄增加而增加，呈正相关，相关系数较高，显著性检验表明有非常显著的意义。这说明骨单位数、骨间板数与年龄之间存在非常密切的相关。但相应的回归方程由于标准估计误差较大，所推算的年龄与实际年龄的误差也就较大。因此，实际应用时尚嫌其估计年龄的准确性较低。外环骨板的平均相对厚度及非哈弗氏管数随年龄的增加而减少，呈负相关，相关系数较高，显著性检验结果表明有非常显著的意义。这说明外环骨板平均相对厚度及非哈弗氏管数与年龄之间存在非常密切的相关。相应的回归方程 III 式及 IV 式由于标准估计误差较小，推算的年龄与实际年龄的误差在 ±5 岁以内者均达 70% 左右。多因素综合估计年龄法的回归方程 III 式与 IV 式联用以及回归方程 I、II、III、IV 式联用的估计年龄与实际年龄的误差在 ±5 岁以内者达 80% 左右。这表明回归方程 III 式及 IV 式以及多因素综合估计年龄的方法有一定的实用价值。

用 24 例已知年龄的国人股骨标本，分别对本文估计年龄的方法及 Kerley 法进行验证，其结果之差异经数理统计处理表明，具有非常显著的意义，从而提示本文方法对国人材料较为适用。造成这种差异是否由于材料来源不同，尚有待进一步探讨。

2. 为使因取材部位不同而引起的差异减少到最小，本组标本均取自股骨中点。但在尸体上要准确地从股骨中点取材有一定困难，对不完整的股骨要确定其中点甚至是不可能的。对于此种情况，有作者指出，股骨骨干中 1/3 的显微结构是同质的。因此，从骨干中 1/3 任何部位取材，所得结果都是一样可信的 (Kerley, 1965)。

3. 许多疾病对骨组织的影响足以产生显微镜可见的变化。现在已知一些常见疾病对骨组织有明显的影响，例如：外伤、炎症、心血管疾病、萎缩、肿瘤、发育及代谢疾病等。在可见的病理性改变部位，正常的骨组织发生改变，其年龄无法正确估计，但 Kerley(1965) 认为，除非在切片取材部位有肉眼观或显微镜观的病理性改变，否则确定年龄的显微镜方法的可靠性是不受影响的。

4. 本文因受标本来源限制，未能作骨组织年龄变化的性别、种族、地区差别的观察。个体间的差异是明显的。一般认为，个体差异是由于个体存在生物年龄与编年年龄的差

异，并且随年龄增加这种差异变得越来越大所造成的 (Kerley, 1965)。也有人指出，这主要是由于一定年龄的不同个体其骨骼改建的强度不同所造成的 (Добряк, 1967)。在 40 岁以上的各个体的估计年龄与实际年龄的误差逐渐增大。除了上述原因以外，还因为在年龄较大的标本中，有的标准视野内非哈弗氏管及外环骨板观察不到，因而引起估计年龄的误差增大。因此对老年个体年龄估计误差要比年轻个体的大。

由于股骨编年标本来源受限，本组标本例数有限，年龄分布亦欠均匀。本文作者虽作了一些工作，仍不能完全揭示骨组织结构随年龄变化的规律，所建立的回归方程及利用多因素综合估计年龄的方法，也有不够完善之处。今后如能收集到更多的标本，从多种长骨多因素进行研究，将会进一步提高估计年龄的准确性。

四、小 结

1. 本组 35 例编年标本均为广西籍人骨，年龄从 5 岁至 86 岁，骨片取自每例尸体右侧股骨中点并与该骨长轴垂直，以常规方法制成。

2. 用显微镜及测微计在每张骨片的 4 个标准视野内分别对骨单位、骨间板、非哈弗氏管及外环骨板厚度进行计数或测量，而得出该骨片的年龄变化指标：骨单位数、骨间板数、非哈弗氏管数、外环骨板平均相对厚度。

3. 骨单位数及骨间板数随年龄增加而增加，为正相关；非哈弗氏管数及外环骨板平均相对厚度随年龄增加而减少，为负相关。

4. 建立了 4 项观察指标与年龄的回归方程，利用估计年龄的轮廓图，进而建立了多因素综合估计年龄的方法。

5. 用 24 例已知年龄的国人股骨标本对已建立的 4 个回归方程及多因素综合估计年龄的方法所作的验证表明，回归方程 I、II、III、IV 式联用，III、IV 式联用，以及回归方程 III 式与 IV 式均有一定的实用价值。

6. 用 24 例已知年龄的国人股骨标本对本文估计年龄的方法与 Kerley 法所作的对比验证提示，本文方法对国人材料较为适用。

7. 本文方法既适用于青少年个体，亦适用于老年个体；既适用于完整的股骨，亦适用于仅存中段的股骨。

本文作者对陈康颐教授，衡阳医学院组织胚胎学教研室主任盛昆岚副教授、任炳炎讲师及解剖学教研室主任韩建生副教授给予的指教表示衷心感谢。

(1982 年 5 月 24 日收稿)

参 考 文 献

陈康颐等，1964 年。法医学。第 2 版。人民卫生出版社。

陈世贤，1980 年。法医骨学。第 1 版。群众出版社。

杨纪珂，1965 年。数理统计方法在医学科学中的应用。第 1 版。上海科学技术出版社。

郭祖超，1965 年。医用数理统计方法。第 2 版。人民卫生出版社。

黄帝内经素问，1978 年。第 1 版。人民卫生出版社。

Currey, J. D. 1964, Some effect of aging in human Haversian systems. *J. Anat.*, 98: 69—75.

Jowsey, J. 1960, Age changes in human bone. *Clinical Orthopaedics*, 17: 210—217.

- Jowsey, J. 1966. Studies of Haversian systems in man and some animals. *J. Anat.*, **100**: 857—864.
- Kerley, E. R., 1965. The microscopic determination of age in human bone. *Am. J. Phys. Anthropol.*, **23**: 149—164.
- Sharpe, W. D., 1979 Age changes in human bone. *Bull. NY Acad. Med.* Sep **55**: 757—773.
- Tappen, N. C. 1977. Three dimensional studies of resorption spaces and developing osteons. *Am. J. Anat.*, **149**: 301—332.
- Vincentelli, R. 1978. Relation between collagen fiber orientation and age of osteon formation in human tibial compact bone. *Acta. Anat.*, **100**: 120—128.
- Bogatov, V. N., IU. I. Denisov, 1977. Raspredelenie mineralnyikh solei v strukturakh kompaktnogo veshchestva kosti cheloveka. *Arkh. Anat.* **LXXIII** Vyip. 12 str. 61—68.
- Dobriak, V. I. 1967. Nekotorye vozrastnyie osobennosti stroeniiia kompaktnogo veshchestva dlinnyikh trubchatyikh kostei cheloveka. *Arkh. Anat.* **LIII** No: 11 str. 53—58.

PRELIMINARY STUDY ON DETERMINATION OF BONE AGE BY MICROSCOPIC METHOD

Zhu Fangwu

(Department of Anatomy, Guangxi College of Traditional Chinese Medicine)

Key words Bone age estimating; Femur; Histology

Summary

The histological age changes that occur in the cortex of human long bones were measured by counting the number of osteon, osteon fragments, non-Haversian canal and the average of the relative thickness of lamellae in four selected 100 power visual fields in the peripheral part of the cortex in ground cross sections of the mid-shaft of the femur. Bar charts of age and bi-logarithmic line charts of age were derived from 35 specimens covering an age range from 5 years through 86 years. Significant correlations were found between the actual age and estimated age. About 80% of the estimated ages calculated from the regression formulas derived from these factors are within \pm 5 years of the actual ages and nearly 90% are within \pm 10 years of the actual ages. Synthetic method is used to estimate age by data of all of the 4 items. When this method was checked on 24 specimens, about 80% of the estimates fall within \pm 5 years of actual ages, the results are better than those by Kerley's method for Chinese specimens.